

无氮饲料中铬添加水平对大鼠器官指数、肠道黏膜形态及血清指标的影响

郑灿财 黄艳玲*

(西南民族大学生命科学与技术学院, 成都 610041)

摘 要: 本试验旨在研究无氮饲料中添加不同水平丙酸铬(CrPro)对 Sprague Dawley (SD) 大鼠器官指数、血清指标的影响。试验选用 36 只体重均一断奶雌性 SD 大鼠, 分为 3 个处理, 每个处理 6 个重复, 每个重复 2 只鼠。各处理分别饲喂无氮基础饲料(对照组, 含铬 0.08 mg/kg)及在基础饲料上分别添加 0.2 和 1.0 mg/kg CrPro (以铬计)的试验饲料, 试验期 21 d。结果显示: 与对照组相比, 1) 饲料添加 0.2 mg/kg 的 CrPro 显著提高了大鼠脾脏指数 ($P<0.05$)。2) 饲料添加 1.0 mg/kg 的 CrPro 显著提高了大鼠空肠绒毛高度与隐窝深度的比值 ($P<0.05$)。3) 饲料添加 1.0 mg/kg 的 CrPro 显著提高了血清白蛋白和尿酸含量 ($P<0.01$), 0.2 mg/kg Cr 添加提高了尿酸含量 ($P<0.05$)。由此可见, 无氮饲料中补充适量铬对改善大鼠机体免疫器官指数、肠黏膜形态及血清蛋白质代谢有一定的影响。

关键词: 无氮饲料; 丙酸铬; 器官指数; 肠道黏膜; 血清指标

中图分类号: S816.72

文献标识码:

文献编码:

铬(Cr)是动物必需的微量元素之一, 作为胰岛素作用的辅助因子, 在机体碳水化合物、脂质、蛋白质和核酸代谢中扮演着重要角色^[1]。许多研究表明, 饲料中添加适量的 Cr 具有提高动物生长性能、改善胴体品质、增强机体免疫力等作用^[2-4]。铬在动物体内形成小分子 Cr 的有机配合物以被动扩散的形式通过肠黏膜进入到小肠内^[5], 其吸收部位主要在小肠中部, 其次是回肠和十二指肠^[6]。肠黏膜不仅是机体消化、吸收营养物质的重要场所, 而且还具有重要的免疫功能, 保持正常的肠黏膜形态是肠道发挥其强大吸收功能、抵抗外界有害物质入侵、促进机体健康发育的前提。目前针对 Cr 方面的研究大多集中在 Cr 对机体糖代谢和脂肪沉积的影响^[7-9], 而针对肠道黏膜形态和蛋白质代谢方面的研究较少。且有研究认为饲料蛋白质是 Cr 的最好来源^[10], 即摄入低蛋白质(无氮)饲料可能会导致 Cr 的缺乏^[10-11]。

收稿日期: 2015-07-23

基金项目: 四川省国际合作计划项目(2015HH0018); 西南民族大学研究生创新型科研项目(CX2014SZ78)

作者简介: 郑灿财(1990-), 男, 山东汶上人, 硕士研究生, 从事矿物元素营养研究。E-mail: zhengcancai@126.com

*通信作者: 黄艳玲, 教授, 硕士生导师, E-mail: swunylh@163.com

鉴于此,本研究以 Sprague Dawley (SD) 大鼠为动物模型,选用新型 Cr 源——丙酸铬 (Cr propionate,CrPro),通过饲喂无氮饲料以产生低 Cr 状态,初步探讨饲料添加不同水平的 CrPro 对 SD 大鼠器官发育、肠道黏膜形态和血清指标的影响,为人们进一步认识 Cr 的作用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料及试验设计

选用体重 (53.63 ± 1.37) g 的无特定病原体 (SPF) 级雌性断奶 SD 大鼠 36 只,预饲喂 1 周后,根据各处理体重无差异 ($P > 0.05$) 原则分为 3 个处理,每个处理 6 个重复,每个重复 2 只大鼠。各处理分别饲喂无氮基础饲料 (对照组,含铬 0.08 mg/kg) 及在基础饲料上分别添加 0.2 和 1.0 mg/kg CrPro (以 Cr 计) 的试验饲料。试验期 21 d。CrPro 由建明 (珠海) 工业有限公司提供,实测 Cr 含量为 0.11%。根据前人研究结果^[12]配制纯合无氮基础饲料,其中的酪蛋白及十二水合硫酸铬钾以等比例玉米淀粉替代 (凯氏定氮法测定基础饲料中粗蛋白质含量为 0.70%,电热板消解-石墨炉原子吸收光谱法测定基础饲料中 Cr 含量为 0.08 mg/kg)。

1.2 饲养管理

试验于 2015 年 3 月在西南民族大学小动物试验场进行。自然周期光照,动物房温度控制在 (24 ± 1) °C,相对湿度控制在 50%~60%,排风扇 24 h 连续通风换气。大鼠自由采食试验饲料,自由饮用去离子水 (未检测出 Cr)。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 血清指标

正式期第 21 天,禁食 8 h,对重复笼里的 2 只大鼠称重后,眼球动脉采血,4 °C 条件下以 2 000×g 离心 15 min 制得血清,置于 -20 °C 条件下保存。

血清指标均由全自动生化分析仪 (TC6010L,上海特康科技有限公司) 测定,总蛋白 (TP) 含量测定采用双缩脲法;白蛋白 (ALB) 含量测定采用溴甲酚绿法;尿酸 (UA) 含量测定采用尿酸酶法。计算球蛋白 (GLB) 含量及白球比 (A/G)。

$$\text{GLB} = \text{TP} - \text{ALB}。$$

1.3.2 器官指数

采血后，颈椎脱臼处死，剖离肝脏、脾脏、肾脏，称重并计算各器官指数。

器官指数 (mg/g) = 器官鲜重/活体重。

1.3.3 空肠黏膜形态

大鼠处死后，迅速剪取空肠段 2 cm，用 pH 7.2 的磷酸盐缓冲液 (PBS) 轻轻冲洗后置于 4% 多聚甲醛固定液中固定，4 °C 保存 3 d 后，进行石蜡包埋、切片及常规苏木素-伊红(HE)染色，观察并测量空肠的绒毛高度 (从绒毛基底部到绒毛顶端的距离)，隐窝深度 (隐窝基底部到绒毛基底部的距离)，计算绒毛长度/隐窝深度的比值。

1.4 统计分析

应用 SAS 8.1 程序对数据进行单因素方差分析 (one-way ANOVA)，以 $P < 0.05$ 作为差异显著的标准，用 Duncan 氏法进行多重比较。

2 结 果

2.1 饲料 CrPro 添加水平对大鼠器官指数的影响

由表 1 可知，饲料 CrPro 添加水平对大鼠肝脏指数和肾脏指数无显著影响 ($P > 0.05$)。相比对照组和 1.0 mg/kg 组，0.2 mg/kg 组显著提高了脾脏指数 ($P < 0.05$)，而对照组和 1.0 mg/kg 组间无差异 ($P > 0.05$)。

表 1 饲料 CrPro 添加水平对大鼠器官指数的影响

Table 1 Effects of dietary CrPro supplemented level on organ indexes of rats						mg/g
项目 Items	CrPro 添加水平 CrPro supplemented level			SEM	P 值 P-value	
	0	0.2	1.0			
肝脏指数 Liver index	54.72	59.03	55.26	2.50	0.42	
脾脏指数 Spleen index	2.33 ^b	2.58 ^a	2.28 ^b	0.08	0.04	
肾脏指数 Kidney index	10.88	11.11	10.69	0.20	0.34	

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)，相同或无字母表示差异不显著 ($P > 0.05$)。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$). The same as below.

2.2 饲料 CrPro 添加水平对大鼠空肠黏膜形态的影响

由表 2 可知，饲料 CrPro 添加水平对空肠绒毛高度、隐窝深度无显著影响 ($P>0.05$)。与对照组相比，1.0 mg/kg 组显著提高了绒毛高度/隐窝深度 ($P<0.05$)，而 0.2 mg/kg 组与对照组之间无显著差异 ($P>0.05$)。

表 2 饲料 CrPro 添加水平对大鼠空肠黏膜形态的影响

Table 2 Effects of dietary CrPro supplemented level on jejunal mucosa morphology of rats

项目 Items	CrPro 添加水平 CrPro supplemented level			SEM	P 值 P-value
	0	0.2	1.0		
绒毛高度 Villus height/ μm	467.03	464.27	500.88	11.98	0.09
隐窝深度 Crypt depth/ μm	92.07	88.24	86.72	2.29	0.27
绒毛高度/隐窝深度 Villus height/crypt depth	5.30 ^b	5.20 ^b	5.88 ^a	0.18	0.04

2.3 饲料 CrPro 添加水平对大鼠血清指标的影响

由表 3 可知，饲料 CrPro 添加水平对血清 TP、GLB 含量及 A/G 无显著影响 ($P>0.05$)。相比对照组及 0.2 mg/kg 组，1.0 mg/kg 组显著提高了血清 ALB 含量 ($P<0.05$)，而对照组与 0.2 mg/kg 组之间无显著差异 ($P>0.05$)。与对照组相比，0.2、1.0 mg/kg 组显著提高了血清 UA 含量 ($P<0.05$)，且 1.0 mg/kg 组显著高于 0.2 mg/kg 组 ($P<0.05$)。

表 3 饲料 CrPro 添加水平对大鼠血清指标的影响

Table 3 Effects of dietary CrPro supplemented level on serum parameters of rats

项目 Items	CrPro 添加水平 CrPro supplemented level			SEM	P 值 P-value
----------	-------------------------------------	--	--	-----	-------------

	0	0.2	1.0		
总蛋白 TP/ (g/L)	61.94	62.62	63.40	1.51	0.79
白蛋白 ALB/ (g/L)	26.30 ^b	26.20 ^b	27.36 ^a	0.31	0.04
球蛋白 GLB/ (g/L)	35.50	34.88	37.68	1.23	0.28
白球比 A/G	0.72	0.76	0.73	0.03	0.63
尿酸 UA/ (μmol/L)	75.67 ^c	89.50 ^b	107.83 ^a	3.93	0.00

3 讨 论

3.1 饲料 CrPro 添加水平对大鼠器官指数的影响

本研究发现饲料 CrPro 添加水平对大鼠肝脏指数和肾脏指数无显著影响。与此相似，Bernao 等^[13]对 Wistar 大鼠连续灌服不同水平（0、0.1、0.2、0.5 mg/d）的吡啶甲酸铬 12 d，发现腓肠肌指数、肝脏指数以及胴体指数在各处理间无显著差异。辜良英等^[14]也发现，相比不添加 Cr 的对照组，饲料中添加 0.3 mg/kg 的纳米铬和吡啶羧酸铬对 SD 大鼠心脏指数、肝脏指数、肾脏指数、睾丸指数以及后腿肌指数无显著影响，但在脾脏指数方面，吡啶羧酸铬组高于纳米铬组。在提高脾脏指数方面，本研究也发现，0.2 mg/kg 组比对照组和 1.0 mg/kg 组更有效，而对照组和 1.0 mg/kg 组间无差异。脾脏作为机体免疫器官，其重量的增加在一定意义上反映机体免疫机能的提高^[15]。这提示我们，饲料中添加 0.2 mg/kg 的 CrPro 可能在改善机体免疫性能方面有一定的作用。

3.2 饲料 CrPro 添加水平对大鼠空肠黏膜形态的影响

本研究中饲料 CrPro 添加水平对空肠绒毛高度、隐窝深度无影响，但影响二者的比值，其中 1.0 mg/kg 组能显著提高绒毛高度/隐窝深度，而 0.2 mg/kg 组与对照组之间无显著差异。类似地，李燕^[5]发现饲料中添加 0.2 mg/kg 的吡啶羧酸铬可显著增加 14 日龄热应激肉鸭的空肠绒毛高度/隐窝深度，并可显著增加 21 日龄热应激肉鸭的回肠绒毛高度/隐窝深度。王珏等^[16]于热应激条件下在下蛋鸡饲料中添加不同水平（0、0.07、0.15、0.22、0.29、0.37 μg/kg）的葡萄糖耐量因子 52 d，发现与对照组相比，0.37 μg/kg 组能极显著提高空肠绒毛高度，0.15 μg/kg 组能显著提高空肠绒毛高度。肠绒毛为小肠固有层和上皮共同凸向肠腔形成的叶状结构，可增大小肠的吸收面积，特别是绒毛高度/隐窝深度反映了肠道黏膜的功能状态，比值高说明小肠消化吸收功能增强。由此可知，饲料中添加适量 Cr 可以改善肠黏膜形态，提高

小肠对营养物质的利用率。但也有研究指出, 饲料中添加不同水平 (0、5、10、15 mg/kg) 的六水合氯化铬 ($\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 对獭兔十二指肠的绒毛高度、隐窝深度及绒毛高度/隐窝深度均无显著影响^[17]。这可能是与 Cr 源的选择及添加水平有关。目前关于 Cr 对肠黏膜影响的研究还较少, 需要加大这方面研究的关注度。

3.3 饲料 CrPro 添加水平对大鼠血清指标的影响

本研究发现饲料 CrPro 添加水平对大鼠血清 TP、GLB 含量及 A/G 无显著影响, 这与 Bernao 等^[13]、辜良英等^[14]、闫祥洲等^[18]、张敏红等^[19]人的研究相一致。闫祥洲等^[18]发现饲料中添加 0.2 mg/kg 的甲基吡啶铬或酵母铬对断奶仔猪血清 TP、GLB 含量及 A/G 无显著影响。张敏红等^[19]发现饲料中添加 0.3 mg/kg 的吡啶羧酸铬对高温条件下饲养的阉公猪血浆 TP、GLB 含量也无显著影响。然而, 侯小强等^[20]在对早期断奶仔猪为期 35 d 的试验中发现, 饲料中添加 0.2 mg/kg 的吡啶羧酸铬对第 0、9、18、35 天血清 TP、GLB 含量无显著影响, 但显著提高了第 27 天血清 TP、GLB 含量。王敏奇等^[21]在肥育猪饲料中添加 0.2 mg/kg 的不同铬源 (氯化铬、吡啶羧酸铬、纳米铬) 40 d, 发现仅纳米铬和吡啶羧酸铬组显著提高了血清 TP 含量。由此可见, 铬对动物血清 TP、GLB 含量的影响与试验取样观察时间及 Cr 源类型等有关。

另外, 本研究发现, 相比对照组及 0.2 mg/kg 组, 1.0 mg/kg 组显著提高了血清 ALB 含量, 而对照组与 0.2 mg/kg 组间无显著差异。这与 Moonsie-shageer 等^[22]在牛上及秦健等^[23]、程玉芳等^[24-25]在鸡上的研究结果 (Cr 添加水平为 0.2~1.0 mg/kg) 一致。然而, 闫祥洲等^[18]、张敏红等^[19]、侯小强等^[20]在猪上的研究则表明血清 ALB 含量不受 Cr 添加水平 (0.2~0.3 mg/kg) 的影响。造成这种不同的结果可能与 Cr 的添加水平以及动物种类等有关, 并且本试验基于无氮饲料条件下, 蛋白质供给不足可能对 Cr 发挥其作用产生影响, 但目前关于 Cr 对蛋白质代谢的调节作用还不明确, 需要进一步系统探究。

此外, 在本研究中, 相比对照组, 0.2、1.0 mg/kg 组均显著提高了血清 UA 含量, 且 1.0 mg/kg 组比 0.2 mg/kg 组提高效果更明显。陈强等^[26]在肥育猪饲料中添加不同水平 (0、0.2、0.5、1.0 mg/kg) 的烟酸铬 2 个月, 发现 0.2 与 0.5 mg/kg 添加水平能显著降低血清 UA 含量, 但 1.0 mg/kg 添加水平与对照组间无显著差异, 并且随着 Cr 添加水平的提高, 血清 UA 含量也呈现升高的趋势。Ernest 等^[27]在不同蛋白质来源 (酪蛋白、鱼粉、去皮大豆、棉籽) 饲料

中添加 100 mg/kg 的吡啶羧酸铬饲喂 Wistar 大鼠,发现仅酪蛋白、鱼粉组较相应的对照组显著提高了血清 UA 含量。这提示我们 Cr 对血清 UA 含量的作用效果不一,原因可能与 Cr 添加水平以及饲料蛋白质来源有关。

4 结 论

无氮饲料中添加适量 CrPro 能够提高 SD 大鼠脾脏指数,提高空肠绒毛高度/隐窝深度,提高血清 ALB 和 UA 含量,对改善机体免疫器官指数、肠黏膜形态及血清蛋白质代谢有一定的影响。

参考文献:

- [1] LLOYD K E,FELLNER V,MCLEOD S J,et al.Effects of supplementing dairy cows with chromium propionate on milk and tissue chromium concentrations[J].Journal of Dairy Science,2010,93(10):4774–4780.
- [2] LI Y S,ZHU N H,NIU P P,et al.Effects of dietary chromium methionine on growth performance,carcass composition,meat colour and expression of the colour-related gene myoglobin of growing-finishing pigs[J].Asian Australasian Journal of Animal Sciences,2013,26(7):1021–1029.
- [3] 李斯丽.蛋氨酸铬作为饲料添加剂在生长肥育猪生产中的应用技术研究[D].硕士学位论文.南宁:广西大学,2013.
- [4] 范春玲,兰明慧,周玉龙,等.酵母铬对围产后期奶牛免疫功能和泌乳性能的影响[J].中国畜牧杂志,2013,49(23):36–40.
- [5] 李燕.有机铬对热应激肉鸭肠黏膜形态、HSP70 mRNA 和抗氧化能力的影响[D].硕士学位论文.武汉:华中农业大学,2013.
- [6] CHEN N S C, TSAI A, DYER I A. Effect of chelating agents on chromium absorption in rats[J]. Journal of Nutrition, 1973, 103(8): 1182–1186.
- [7] EMAMI A, GANJ K HAN LOU M, ZALI A. Effects of Cr methionine on glucose metabolism, plasma metabolites, meat lipid peroxidation, and tissue chromium in Mahabadi goat kids[J]. Biological Trace Element Research, 2015, 164(1): 50–57.
- [8] BERNHARD B C, BURDICK N C, RATHMANN R J, et al. Chromium supplementation

- alters both glucose and lipid metabolism in feedlot cattle during the receiving period[J].*Journal of Animal Science*,2012,90(13):4857–4865.
- [9] WANG M Q,WANG C,DU Y J,et al.Effects of chromium-loaded chitosan nanoparticles on growth,carcass characteristics,pork quality,and lipid metabolism in finishing pigs[J].*Livestock Science*,2014,161:123–129.
- [10] SCHROEDER H A,BALASSA J J,TIPTON I H.Abnormal trace metals in man-chromium[J].*Journal of Chronic Diseases*,1962,15(10):941–964.
- [11] MERTZ W,ROGINSKI E E.Effects of chromium (III) supplementation on growth and survival under stress in rats fed low protein diets[J].*Journal of Nutrition*,1969,97(4):531–536.
- [12] REEVES P G,NIELSEN F H,FAHEY G C,Jr.AIN-93 purified diets for laboratory rodents:final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet[J].*Journal of Nutrition*,1993,123(11):1939–1951.
- [13] BERNAO A,MESEGUER I,AGUILAR M V,et al.Effect of different doses of chromium picolinate on protein metabolism in infant rats[J].*Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*,2004,18(1):33–39.
- [14] 辜良英,许梓荣,查龙应,等.不同形式铬对 SD 大鼠生长性能、胴体组成和血清生化指标的影响[J].*动物营养学报*,2007,19(3):258–263.
- [15] 马得莹,单安山,李群道.中草药添加剂对蛋雏鸡生长性能和免疫功能的影响[J].*动物营养学报*,2004,16(2):36–40.
- [16] 王珏,郑艺梅,金光明,等.铬对热应激下蛋鸡空肠组织结构的影响[J].*畜牧与兽医*,2003,35(2):3–5.
- [17] 王洪阳.铜、锰、铬和硒不同添加量对断奶獭兔生产性能、血清指标及十二指肠发育的影响[D].硕士学位论文.杨凌:西北农林科技大学,2012.
- [18] 闫祥洲,张兆红.有机铬对断奶仔猪生长性能和免疫功能的影响[J].*河南农业科学*,2005(7):90–94.
- [19] 张敏红,张卫红,杜荣,等.补铬对高温环境下猪的铬代谢,生理生化反应和生产性能的影响[J].*畜牧兽医学报*,2000,31(1):1–8.

- [20] 侯小强,罗秉坤,张乃生,等.日粮补铬对早期断奶仔猪生产性能,血液理化和应激反应指标的影响[J].畜牧与兽医,2004,36(4):18–20.
- [21] 王敏奇,许晓玲,雷剑,等.不同形式三价铬对肥育猪胴体组成和脂肪代谢的影响[J].畜牧兽医学报,2009,40(1):59–65.
- [22] MOONSIE-SHAGEER S, MOWAT D N. Effect of level of supplemental chromium on performance, serum constituents, and immune status of stressed feeder calves[J]. Journal of Animal Science, 1993, 71(1): 232–238.
- [23] 秦健,杜荣,王俊东.酵母铬与 L-肉碱互作对肉鸡蛋白质代谢的影响[J].中国家禽,2011,33(3):22–25.
- [24] 程玉芳,苗建民,孙黎,等.日粮铬水平对热应激种公鸡免疫功能及蛋白质代谢的影响[J].中国家禽,2011,33(17):19–21.
- [25] 程玉芳,赵美林,靳玲品,等.CrCl₃ 对低温条件下种公鸡血清生化指标的影响[J].畜牧与兽医,2012,44(4):56–58.
- [26] 陈强,蔡春标,李建生,等.添加烟酸铬对生长肥育猪的生长性能、代谢及组织学的影响[J].福建农业大学学报,2000,29(4):502–507.
- [27] ERNEST A K, GUSTAVE K K, SÉRAPHIN K C. Effect of chromium and proteins diets in rats[J]. International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences, 2012, 2(2): 1–8.

Effects of Chromium Supplemented Level in Nitrogen-Free Diets on Organ Indexes, Intestinal Mucosa Morphology and Serum Parameters of Rats

ZHENG Cancai HUANG Yanling*

(College of Life Science and Technology, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China)

Abstract: This experiment was conducted to investigate the effects of different chromium propionate (CrPro) level in nitrogen-free diets (NFD) on organ indexes, intestinal mucosa

morphology and serum parameters of rats. According to body weight, a total of 36 weaned Sprague Dawley (SD) rats were allotted to 3 treatments with 6 replicates per treatment and 2 rats per replicate. Rats were fed a basal NFD (control group) containing 0.08 mg/kg Cr, meanwhile, the basal diets supplemented with 0.2 or 1.0 mg/kg Cr from CrPro for 21 days. The results showed that compared with the control group, 1) dietary supplemented with 0.2 mg/kg CrPro significantly improved spleen index ($P<0.05$). 2) Dietary supplemented with 1.0 mg/kg CrPro significantly increased the ratio of villous height to crypt depth ($P<0.05$). 3) Dietary supplemented with 1.0 mg/kg CrPro significantly improved serum albumin and uric acid content ($P<0.05$). It is concluded that under NFD condition, the proper Cr supplementation has some effects on improving immune organs indexes, intestinal mucosa morphology and serum protein metabolism.

Key words: nitrogen-free diets; CrPro; organ indexes; intestinal mucosa; serum parameters

*Corresponding author, professor, E-mail: swunylh@163.com

(责任编辑 武海龙)